「植物保護新科技研討會」專刊
臺灣省農業試驗所特刊第57號　pp. 133-139 (1996)

茶蠶的性費洛蒙研究

周　延　鑫
中央研究院動物研究所

摘要：茶蠶(*Andraca bipunctata*)性費洛蒙的組成成分，經由氣相層析法分析其質譜圖，以及其DMDS衍生物之質譜圖後，鑑定出四個主要成分，即十八碳醛(18：Ald)，反-11-十八碳烯醛(E11-18：Ald)，反-14-十八碳烯醛(E14-18：Ald)，與反，反-11，14-十八碳二烯醛(E11，E14-18：Ald)。此四成分與合成品做比對，質譜圖和氣相層析滯留時間相同。每一雌蟲(1天到3天齡)性費洛蒙腺體含此四成分的量為121±76，50±20，187±75，237±110ng，比例為20：8：31：41。合成的反，反-11，14-十八碳二烯醛在田間試驗可以抓到雄蟲。其它三種則抓不到雄蟲。雄茶蠶觸角對反，反-11，14-十八碳二烯醛有劇烈的反應。另外，將去頭雌蟲體內注入PBAN(pheromone biosynthetic activating neuropeptide)之後，反，反-11，14-十八碳二烯醛的含量由原來正常雌蟲的55%，增加到75.5%。因此反，反-11，14-十八碳二烯醛是茶蠶的性費洛蒙。這是蠶蛾科(Bombycidae)中，第三個性費洛蒙被鑑定出來的蠶蛾。而反，反-11，14-十八碳二烯醛則是第一次被稱為昆蟲的性費洛蒙。

關鑑詞：茶蠶、性費洛蒙。

前　言

生物要能在地球上成功的生存，認識週圍環境的組成，並盡可能的去利用一些環境中特殊的物理、化學及生物的因子是非常重要的事情。例如我們人類就常借重五種感覺，即視、聽、嗅、味及觸覺來認識我們的週遭環境。可是在比較低等的動物中，如昆蟲類，牠們的視、聽、觸覺都不甚發達，可是牠們仍能在此地球上生生不息，牠們又是如何和牠們的環境交換消息的呢？這就不得不要談談牠們特有的靈敏嗅覺與味覺，也就是我們一般所謂的化學感覺了。

談到靈敏的嗅覺，我們又得從可以產生嗅覺的微量化學物質—性費洛蒙開始談了，性費洛蒙是什麼？在定義上，它就是雌蛾在交配時期所釋放的一種外分泌物質，雌蛾用它來引誘雄蛾不遠千里飛來尋找雌性交配，以便繁殖後代。

研究昆蟲的人都知道，性費洛蒙第一個鑑定成功的科學家是德國人卜提南氏，當時他用的材料是家蠶*Bombyx mori* (L.)；第二個用野蠶 *B. mandarina* M.做性費洛蒙試驗成功的則是日本人。他們也發現這兩種蠶蛾都是雌蛾利用尾端分泌主要的性費洛蒙(E,Z)-10,12-十六碳二烯醇來引誘雄蛾交尾。可是在臺灣也有屬於蠶蛾科(Bombycidae)的第三種茶蠶 *Andraca bipunctata* W.，牠們是不是也分泌性費洛蒙？牠的性費洛蒙又是什麼物質？這是一個有趣的研究課題，現將我們解決這個問題的方法與成果報導於後，有興趣做研究的同仁一定也可以從這裡發現一些參考價值的。

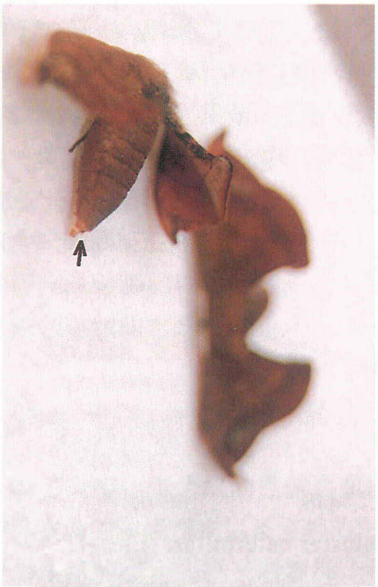
尋「糞」見蹤跡

茶蠶的幼蟲專門吃茶樹的葉子，所以是茶園的大害蟲之一（圖一），農民都想將牠殺死；但是因爲牠們的成蛾都隱藏在濃密的茶葉內，不易被發現，如果要找牠們，有經驗的人，都是在地上先看見牠們幼蟲所排放的糞便，再仔細地在附近茶樹上尋找，才能看見牠們的蹤跡。

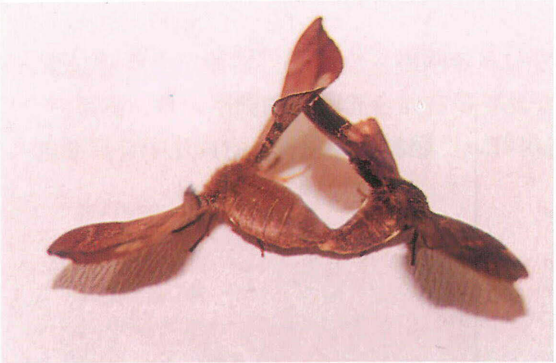
如果我們要研究牠，首先就是將這種茶蠶的幼蟲採回實驗室，放在一個塑膠盒內，每天用新鮮茶葉餵牠，讓牠在室內生長，這樣牠的化蛹羽化就很容易觀察。由此也可以知道這種蛾類和蠶蛾一樣，牠的雌雄個體在外型不同，雄蛾的觸角比雌蛾大很多，而雌蛾腹部要比雄蛾大很多，同時在雌蛾尾部有一個性費洛蒙腺體（圖二），而雄蛾沒有。這個性費洛蒙腺體平常是隱藏在尾端的體內，唯有在雌蛾要交配時，牠才會伸出來分泌性費洛蒙，引誘雄蛾來交尾。因爲這種蛾和蠶蛾太相似了，所以牠們一定也會有性費洛蒙，問題是，牠們的性費洛蒙到底是什麼物質？在國際的文獻上還找不到。

圖一、茶蠶幼蟲專吃茶樹之葉

Fig. 1. Larvae of tea cluster caterpillar, *Andraca bipunctata* Walker eat the leave of tea plant away and aggregate on the branch.



●非發情(左)與發情(右)的雌蛾，尾端有性費洛蒙腺體。



●正在交配的雌雄蛾（雄蛾在右，雌蛾在左方

圖二、非發情(左)與發情(右)的雌蛾，尾端有性費洛蒙腺體。正在交配的雌雄蛾(雄蛾在右，雌蛾在左方)

Fig. 2. Photographs of non-calling (left) and calling (right) females, sex pheromone gland is at the abdomenial tip (arrow). Mating male and female (left one) moths were showing on the bottom figure.

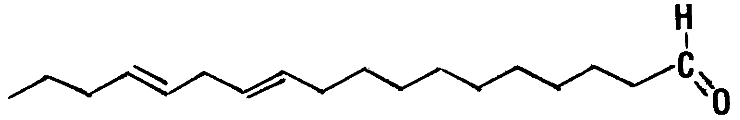
從三組試驗獲得至寶

首先我請本所的賀孝雍小姐，先將發情的雌蛾尾部剪下來，廿隻一組，分爲三組。第一組的尾端放在正已烷內，然後用氣相色層分析儀分析溶在正已烷內的化學成份是什麼？結果她發現其中有四個獨立成份，每個成份都和蠶蛾已知的性費洛蒙不同，所以是一種新的組成。

然後我們將第二組的尾端抽出物打入氣相色層質譜儀內，分別得到四種化合物的分子量，它們分別是268、266、266及264共四種。分子量268的物質經電腦查詢，認定它是飽和的十八碳醛，而266及 264的物質應是比十八碳醛多一個雙鍵及兩個雙鍵的物質而已。

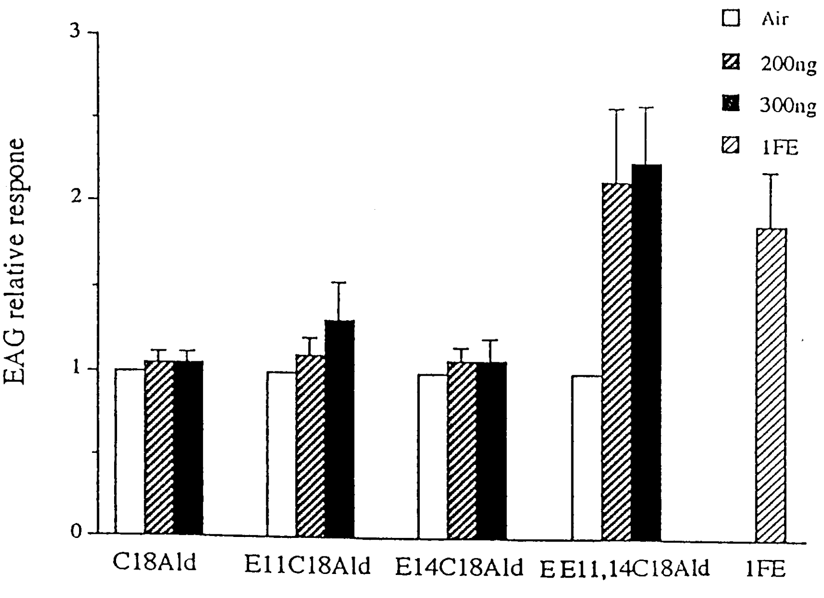
第三組的尾端抽出物使和化學物質DMDS(Dimethyldisulfide) 產生化學反應，由此反應衍生物的特性我們知道兩種分子量爲266的物質，一是E,11-十八碳烯醛，另一是E,14-十八碳烯醛；而分子量爲264 的物質則爲(E,E)-11,14-十八碳二烯醛，其化學構造式見圖三。

因爲已經知道茶蠶的性費洛蒙是由(E,E)-11,14-十八碳二烯醛等四種化合物所組成，所以我們便請本院化學所的陶雨台博士，將此等物質以有機化學的方法分別的在試驗室內將它們合成了。



圖三、茶蠶性費洛蒙之化學構造，(E,E)-11, 14-十八碳二烯醛

Fig. 3. Chemical structure of the sex pheromone of tea cluster caterpillar, (E,E)-11, 14-octadecadienal.



圖四、雄性茶蠶對性費洛蒙之嗅覺反應圖

Fig. 4. EAG response of male *Andraca bipunctata* to 18:Ald, E11-18:Ald, E14-18:Ald, E11, E14-18:Ald, and 1 FE. The vertical bar indicates the standard error of the mean.

性費洛蒙生合成測量

性費洛蒙本來是雌蛾用來引誘雄蛾交配的訊息物質，所以在雌蛾不發情時，理論上牠不會分

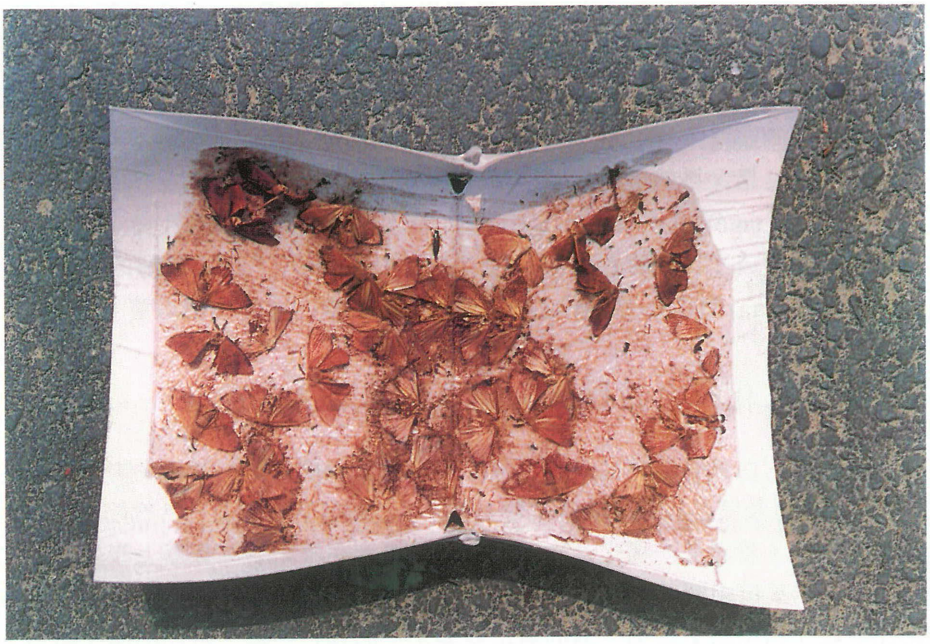
泌這種物質。在蠶蛾的研究中，我們已經知道，性費洛蒙的合成與釋放，完全受腦(食道下神經球)內的細胞分泌的一種神經胜肽鏈(PBAN)來調控，這種胜肽鏈依照文獻是由33個胺基酸所組成，所以在試驗室內很容易用蛋白質合成儀將它合成。依照傳統的方法，我們在茶蠶雌蛾頭部與胸部處結紮，使位於腹部末端的費洛蒙腺體無法與神經胜肽鏈接觸，經過一段時間後，再用氣相色層分析儀分析其性費洛蒙的含量，果然發現性費洛蒙已不存在。如果再將這種結紮後的雌蛾腹部注射含有合成的神經胜肽鏈(5 pmol)後，經過一段時間讓它們作用，結果發現在性費洛蒙腺體，上面所說的四種成份都已恢復合成了，而特別是第四種成份(E,E)-11,14-十八碳二烯醛的量合成的最多，其比正常雌蛾的含量(240ng)都要高出二倍之多，可見它是茶蠶的主要性費洛蒙。

化學合成性費洛蒙之生物活性鑑定

有了有機化學合成的性費洛蒙純品，接下來的工作就是測量此等物質的生物活性，生物活性又分為室內的嗅覺測量以及室外的田間誘蟲試驗。嗅覺測量就是將合成的化合物配成不同的濃度，然後用雄蛾的觸角去試，看看那一種化合物可以由最低濃度在觸角的感覺器上產生最大的電壓變化。茶蠶的嗅覺測試結果可由圖四表示，也就是說只有(E,E)-11,14-十八碳二烯醛可以在0.2微毫克的濃度下引起比空氣（對照組）增強一倍的電位差變化，而其它三種化合物則無此能力。最後我們進行田間試驗，分別將0.1 毫克的四種化合物單獨或是以不同的比例混合放在野外誘蟲，結果無論是在茶葉試驗所的茶園內，或是南港的茶園都只有(E,E)-11,14-十八碳二烯醛可以誘得雄蛾 (圖五及圖六)，所以這個研究結果是正確的。

圖五、合成性費洛蒙在茶園內誘蟲試驗

Fig. 5. Attraction traps of synthetic sex pheromone in the tea plantation.



圖六、用合成性費洛蒙所誘到的雄性茶蠶
Fig. 6. Capture of male moths by synthetic sex pheromone in the tea plantation.

結　語

最後我要說的是，研究科學的方法並不困難，正所謂：「有樣學樣，無樣自己想。」，在這個茶蠶性費洛蒙的試驗裡，我們不但鑑定了第三種蠶蛾科－茶蠶的性費洛蒙，同時還是第一次在科技文獻內證明化合物(E,E)-11,14-十八碳二烯醛爲昆蟲的性費洛蒙，這個性費洛蒙以後不但可以大量在產茶國家如我國大陸、錫蘭與印度等茶園誘蟲，協助茶農滅雄，同時因爲茶蠶的幼蟲食量比茶捲葉蛾及茶姬捲葉蛾(目前在國內茶園已推廣防治的害蟲)的幼蟲大十倍以上，所以更有應用防蟲的價值。另一方面這也是一個本土的生物科研材料完全由國人在國內合作成功的例子，值得大家慶幸。

Isolation, Identification, and Synthesis of Sex Pheromone Components of Female Tea Cluster Caterpillar, *Andraca bipunctata* Walker (Lepidoptera : Bombycidae) in Taiwan

Yien-Shing Chow
Institute of Zoology, Academia Sinica

Abstract

Octadecanal (18:Ald), (E)-11-octadecenal (E11-18:Ald), (E)-14-octadecenal (E14-18:Ald) and (E,E)-11, 14-octadecadienal (E11, E14-18: Ald) were isolated and identified as major components from the pheromone glands of the tea cluster caterpillar, *Andraca bipunctata,* in Taiwan by analyzing the mass spectra of gland components and their DMDS adducts. GC retention times and mass spectra of the components were in agreement with those of authentic synthetic compounds. The average amount of 18:Ald, E11-18:Ald, E14-18:Ald and E11, E14-18: Ald per female gland (1 to 3 days old) was 121 ± 76, 50 ± 20, 187 ± 75, and 237 ± 110ng, respectively, in a ratio of 20:8:31:41. Synthetic E11,E14-18:Ald caught more males than each of the other three components or blank control in field trapping tests. E11, E14-18:Ald is reported as an insect sex pheromone for the first time. Male antenna responded to E11,E14-18:Ald strongly in an EAG analysis. Furthermore, 4 hr after the injection of PBAN (pheromone biosynthetic activating neuropeptide) into decapitated female moths (2 days old), the percentage of the E11,E14-C18 Ald in the gland extract increased from 0% to 75.5% , which was also significantly more than that of unligated and uninjected control at 55.1% . All these data indicated that E11, E14-18: Ald is the sex pheromone of the *Andraca bipunctata* in Taiwan.

Key words: *Andraca bipunctata,* sex pheromone.